

苯醚威作用于印鼠客蚤的组织学研究

张迎春 漆一鸣*

(贵阳医学院生物学教研室 贵阳 550004)

摘要:【目的】通过研究苯醚威对印鼠客蚤 *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903) 的早 3 龄幼虫和未吸血新羽化成虫的组织学变化, 探讨其灭蚤机理, 为鼠疫媒介蚤种的防治提供基础资料。【方法】以微量点滴法将苯醚威施药于印鼠客蚤早 3 龄幼虫和未吸血新羽化成虫, 采用组织学、显微摄影及统计学方法观察组织变化。【结果】经苯醚威作用后, 印鼠客蚤的早 3 龄幼虫的表皮增厚、卵巢芽生殖细胞萎缩、睾丸芽精原细胞间质减少; 未吸血新羽化成虫的睾丸塞消失快、唾液腺细胞破坏严重、中肠上皮细胞萎缩。【结论】(1) 苯醚威通过干扰印鼠客蚤幼虫的变态, 引起幼虫表皮、生殖芽异常改变, 不能发育为成虫而死亡;(2) 苯醚威可加速印鼠客蚤新羽化雄性成虫的睾丸塞吸收;(3) 苯醚威可破坏印鼠客蚤新羽化成虫的唾液腺细胞, 并引起中肠上皮细胞萎缩。

关键词:苯醚威; 印鼠客蚤; 组织学; 昆虫生长调节剂; 灭蚤机理

中图分类号: Q965.8 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)05-0504-05

Histological effects of fenoxy carb on the Oriental rat flea, *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera: Pulicidae)

ZHANG Ying-Chun, QI Yi-Ming* (Department of Biology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

Abstract:【Objective】To provide the fundamental data of controlling the flea species of media of plague and to probe insecticidal mechanisms of fenoxy carb to the early third instar larvae and the newly emerged adults of *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903) through histological observations.【Methods】The early third instar larvae and the newly emerged adults of *X. cheopis* were treated with fenoxy carb by microliter syringes. The changes of tissues were determined by the methods of histology, microphotographics and statistics.【Results】The cuticula of the third instar larvae of *X. cheopis* treated with fenoxy carb were thicker, the reproductive cells of ovarian rudiments became atrophied, and interstitial tissues of spermatogonia became less. The testicular plug of the newly emerged adults of *X. cheopis* treated with fenoxy carb disappeared faster than treated with acetone, the salivary gland cells were damaged seriously, and the midgut epithelia become atrophied.【Conclusions】(1) Fenoxy carb caused the death of *X. cheopis* larvae by disturbance of metamorphosis and changes in cuticula, ovarian rudiments and testicular rudiments. (2) Fenoxy carb escalated disappearance of testicular plug in the newly emerged male adults. (3) Fenoxy carb caused the death of the newly emerged adults of *X. cheopis* by damage of salivary gland cells and atrophy of midgut epithelia.

Key words: Fenoxy carb; *Xenopsylla cheopis*; histology; insect growth regulator; insecticidal mechanism

蚤是重要的医学昆虫, 是鼠疫和鼠源性斑疹伤寒等自然疫源性疾病的重要媒介。印鼠客蚤 *Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903) 是滇粤闽黄胸鼠鼠疫疫源地主要媒介, 也是世界公认的最重要的家鼠和人间腺鼠疫以及鼠源性斑疹伤寒的媒介蚤种

(漆一鸣等, 2005)。

苯醚威是第三代绿色杀虫剂, 属非萜烯类昆虫生长调节剂, 它对大多数昆虫表现出强烈的保幼激素活性。与第二代杀虫剂相比, 它具有持效期长, 对环境无污染, 杀虫谱广, 对害虫高效, 对哺乳动物低

毒,并能有效防治抗性害虫而对其天敌无害的优点(姜志宽等,2001)。

有关苯醚威灭蚤的研究国外报道不多见,且都是针对猫栉首蚤 *Ctenocephalides felis* 的(Osbrink et al.,1986; Meola M. et al.,1996; Dean and Meola, 1997; Rajapakse et al., 2002);国内至今未见报道。为此,本试验用苯醚威处理印鼠客蚤的早3龄幼虫和未吸血新羽化成虫进行组织学变化的研究,为探讨苯醚威的灭蚤机理和鼠疫媒介蚤种的防治提供有意义的基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验用药

苯醚威(fenoxy carb)粉剂,纯度为91%,郑州沙隆达伟新农药有限公司提供。将苯醚威制成50%丙酮溶液,避光保存待用。

1.2 试验蚤种

2002年从云南流行病研究所引种。参考漆一鸣(1984a,1984b)方法对鼠蚤进行实验室饲养繁殖。幼虫培养基由锯末、猪血粉、干酵母粉以10:4:1比例混匀组成。小白鼠为喂血动物,饲养条件为温度(24 ± 2)℃,相对湿度75%~85%。

1.3 标本的获取

1.3.1 早3龄幼虫:在白色瓷盆内加入约1~2 cm深的水,取缸内幼虫培养基倒入置于盆中的大培养皿,待成蚤跳出后,将培养基过20目筛。在筛出的幼虫培养基中挑取大小一致的早3龄幼虫。

1.3.2 未吸血新羽化蚤:将幼虫培养基过20目筛,筛出的蚤茧转入干净试管内,双层绸布封口,置于养蚤室内的玻璃缸内待其羽化。

1.4 染色方法

改良Mallory氏三色染色法(漆一鸣,1985)。染色结果:细胞核:红色;肌肉:紫红色;节间膜:蓝色;结缔组织:浅蓝色;厚化的几丁质:黄色;非厚化的几丁质:红色。

1.5 组织学方法

1.5.1 早3龄幼虫:采用微量点滴法将50%苯醚威施药于早3龄幼虫(每只给药量为50 μg),设丙酮和空白对照组,常规饲养幼虫。分别于给药后1,3,5,7天取样(丙酮和空白对照组只在第1,3天取样,第5天已化蛹),每次10~15只,用Duboscq-Brasil固

定液固定24 h,制成8 μm连续石蜡切片,纵切面。

1.5.2 未吸血新羽化蚤:采用微量点滴法将50%苯醚威施药于新羽化成虫(每只给药量为200 μg),设丙酮和空白对照组。温、湿度分别控制为(24 ± 2)℃,75%~85%的条件下放置。于给药后的1,3,5,7天分别取出雌、雄成蚤各10~15只,用Duboscq-Brasil固定液固定24 h,制成8 μm连续石蜡切片,纵切面。

1.6 显微摄影

用Olympus PM-10AD显微摄影装置采集图像。

1.7 统计处理

用Mias图像分析系统测量幼虫表皮最大厚度,卵巢芽或睾丸芽的最大外径;成虫唾液腺最大外径,中肠上皮最大厚度。每组5~10个样本。SPSS 10.0统计分析软件计算均值及标准差,并进行均值间的比较和检验。

2 结果

2.1 早3龄幼虫组织学结果

2.1.1 早3龄幼虫组织学结果:对照组中空白组和丙酮组的早3龄幼虫组织学结果无明显差别,现以丙酮组和苯醚威组作比较显示:苯醚威组切片见幼虫的表皮、卵巢芽、睾丸芽与丙酮组相比发生了变化,余未见明显改变。

给予苯醚威1天后的印鼠客蚤早3龄幼虫的表皮(图版I-2)较丙酮组(图版I-1)增厚。随着饲养时间的延长,表皮进一步增厚(图版I-3)。

给予苯醚威3天后的印鼠客蚤早3龄幼虫的卵巢芽(图版I-5)较丙酮组(图版I-4)无明显增大。随着饲养时间的延长,卵巢芽增大(图版I-6),生殖细胞萎缩。

给予苯醚威3天后的印鼠客蚤早3龄幼虫的睾丸芽(图版I-8)较丙酮组(图版I-7)略有增大,主要表现为生殖细胞的体积稍有增大。随着饲养时间的延长,睾丸芽进一步增大(图版I-9),生殖细胞的体积、数量变化不明显,但生殖细胞间质减少。

2.1.2 早3龄幼虫组织学变化统计结果:经苯醚威作用1天后,印鼠客蚤早3龄幼虫的表皮厚度、睾丸芽外径较丙酮组增大($P < 0.05$);随着苯醚威作用时间的延长,虫体表皮厚度、卵巢芽或睾丸芽外径不断增大($P < 0.05$ (表1))。

表 1 苯醚威作用不同时间后印鼠客蚤早 3 龄幼虫的各组织测量值变化(平均值 \pm SD , μm)Table 1 Effect of fenoxycarb on the early 3rd-instar larvae of *X. cheopis* in different days after treatment (mean \pm SD , μm)

测量项目 Measure items	丙酮 Acetone		苯醚威 Fenoxycarb			
	1 d	3 d	1 d	3 d	5 d	7 d
表皮最大厚度 Maximal thickness of cuticula	0.0184 \pm 0.0054 a	-	0.0277 \pm 0.0060 bA	-	0.0549 \pm 0.0012 B	-
卵巢芽外径 Maximal diameter of ovarian rudiment	-	0.3450 \pm 0.0461 a	-	0.3367 \pm 0.0438 aA	-	0.5056 \pm 0.0733 B
睾丸芽外径 Maximal diameter of testicular rudiment	-	0.6743 \pm 0.0536 a	-	0.9968 \pm 0.0382 bA	-	1.1154 \pm 0.0749 B

注 Notes : 表中数据采用配对 *t* 检验 相同字母表示差异不显著 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$) ; 大写字母表示组内比较 小写字母表示组间比较。表 3 同。Compared using paired *t*-test. Same letters mean no significant difference , while different letters mean significant difference ($P < 0.05$ level). Capital letters mean comparison within fenoxycarb or acetone treatments , while small letters mean comparison between acetone and fenoxycarb treatments . The same for Table 3 .

2.2 未吸血新羽化蚤组织学结果

2.2.1 未吸血新羽化蚤组织学结果 : 对照组中空白组和丙酮组的未吸血新羽化成虫组织学结果无明显差别 现以丙酮组和苯醚威组作比较显示 : 苯醚威组切片见未吸血新羽化成虫的睾丸、唾液腺和中肠上皮与丙酮组相比发生了改变, 余未见明显改变。

给予苯醚威 1 天后的印鼠客蚤未吸血新羽化成虫睾丸塞消失快,许多雄蚤可见大量的精子从睾丸进入附睾(图版 I -11),丙酮组(图版 I -10)仍可见许多雄蚤的睾丸塞未消失,没有精子进入附睾。丙酮组在 3 天后,睾丸塞才完全消失(图版 I -12)。

丙酮组 1 天的印鼠客蚤未吸血新羽化成虫的唾液腺细胞(图版 I -13)胞核呈圆形或椭圆形,胞质无膨大; 苯醚威组(图版 I -14)的唾液腺明显增大,腺细胞胞核呈新月状,胞质疏松,明显膨大,凸向唾液腺腔 腺腔形态不规则。随着时间的延长 给药 7 天后,丙酮组(图版 I -15)唾液腺细胞胞核略有膨大,余未见改变;而苯醚威组(图版 I -16)的唾液腺细胞胞核向胞膜边集或消失,胞质进一步疏松呈泡沫状,甚至出现空化,腺腔进一步缩小。

给予苯醚威 3 天后的印鼠客蚤未吸血新羽化成虫中肠上皮细胞(图版 I -18)较丙酮组(图版 I -17)明显萎缩。随着时间的延长 给药 7 天后,丙酮组(图版 I -19)中肠上皮细胞无明显变化; 苯醚威组的中肠上皮细胞进一步萎缩(图版 I -20) 肠壁变薄。

表 3 苯醚威作用不同时间后印鼠客蚤新羽化成虫的各组织测量值变化(平均值 \pm SD , μm)Table 3 Effect of fenoxycarb on the newly emerged adults of *X. cheopis* in different days after treatment (mean \pm SD , μm)

测量项目 Measure items	丙酮 Acetone			苯醚威 Fenoxycarb		
	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d
唾液腺外径 Maximal diameter of salivary gland	1.3700 \pm 0.2210 aA	-	1.5242 \pm 0.4195 aA	1.9985 \pm 0.4642 bA	-	1.8351 \pm 0.3067 bA
中肠上皮最大厚度 Maximal thickness of midgut epithelium	-	0.6021 \pm 0.0894 aA	0.5760 \pm 0.1206 aA	-	0.3179 \pm 0.0439 bA	0.2536 \pm 0.0295 bB

2.2.2 未吸血新羽化蚤组织学变化统计结果 : 经苯醚威作用 1 天后,印鼠客蚤新羽化雄性成虫的睾丸塞 100% 消失;而经丙酮作用 1 天后睾丸塞消失率为 18.18% 3 天后睾丸塞才完全消失(表 2)。在苯醚威作用 1 天后,印鼠客蚤新羽化成虫唾液腺增大,中肠上皮变薄 ($P < 0.05$) ,随着苯醚威作用时间的延长,中肠上皮进一步变薄 ($P < 0.05$),但丙酮组唾液腺及中肠上皮未见明显改变 ($P > 0.05$)(表 3)。

表 2 处理后不同时间苯醚威对印鼠客蚤新羽化雄性成虫促性成熟的作用效果

Table 2 Effect of fenoxycarb on the newly emerged male adults of *X. cheopis* in different days after treatment

观察项目 Measure items	丙酮 Acetone		苯醚威 Fenoxycarb
	1 d	3 d	1 d
观察总数 Total number of individuals observed	11	13	15
有睾丸塞个体数 Number of individuals with testicular plug	9	13	15
睾丸塞消失个体数 Number of individuals with testicular plug disappeared	2	0	0
消失比例 (%) Ratio with testicular plug disappeared	18.18	100	100

3 讨论

3.1 苯醚威对印鼠客蚤早3龄幼虫的致死机理

组织学切片显示苯醚威可引起印鼠客蚤早3龄幼虫的表皮、卵巢芽和睾丸芽的改变。

幼虫的表皮与蚤的变态相关,是保幼激素的靶器官之一。切片结果显示经苯醚威作用后,印鼠客蚤幼虫的表皮增厚,这可能与苯醚威对其长时间作用有关。表皮增厚也是外源保幼激素作用于表皮的结果,使其维持幼态,干扰变态过程,无法蜕皮,引起幼虫死亡。这种中毒现象也见于卡死克作用于德国小蠊 *Blatella germanica* 的结果(郝惠玲等 2003)。

幼虫生殖芽是成虫生殖器的芽基,与蚤的繁衍密切相关。切片结果显示给药后的印鼠客蚤的早3龄幼虫的卵巢芽、睾丸芽不仅维持幼态,没有分化,而且显示出退化、萎缩迹象,如生殖细胞的萎缩、生殖细胞间质的减少,这对控制蚤的繁殖是有利的。

由以上结果认为,苯醚威通过干扰印鼠客蚤幼虫的变态,引起幼虫表皮、生殖芽异常改变,不能发育为成虫而死亡。

3.2 苯醚威对印鼠客蚤未吸血新羽化成虫的作用

组织学切片显示苯醚威可引起印鼠客蚤未吸血新羽化成虫的睾丸、中肠上皮和唾液腺细胞发生改变。

统计结果显示,经苯醚威作用1天后睾丸塞消失率为100%,而对照组3天后睾丸塞在才完全消失。这与 Dean 等(1997)采用滤纸片法,将猫栉首虱置于经 JH-Ⅲ、灭幼宝、苯醚威或烯虫酯处理的滤纸片上3至7天后,精子从睾丸转向附睾的比例明显高于对照组的结果相同。Susan 等(1997)还报道,经苯醚威处理的雄蚤与正常雌蚤交配后,雌蚤的受精囊内没有精子的出现。故苯醚威虽然能促进雄蚤从物理不成熟到性成熟的转变,但却不能使雌蚤受精,其机制尚待进一步研究。

除此之外,从睾丸塞消失的比例看,Dean 等(1997)报道经苯醚威作用3天后,新羽化的猫栉首虱睾丸塞消失比例为63%,7天达到100%;对照组在7天后睾丸塞消失的比例仍为0。这与本试验结果相差很大,可能是一方面与蚤种有关,另一方面与给药方式及给药量相关。

中肠、唾液腺同属消化系统,Meola 等(1996)报道接触灭幼宝7天后的未吸血猫栉首虱的中肠上皮细胞萎缩,唾液腺细胞出现自溶,导致腺细胞上皮和

胞核的溶解,腺腔扩大。本试验组织学切片显示印鼠客蚤未吸血成虫的中肠上皮细胞萎缩,唾液腺细胞严重破坏,表现为细胞膨大、胞核变形最后消失,胞质疏松最后空化,提示中肠上皮和唾液腺呈破坏趋势,故认为苯醚威对印鼠客蚤的未吸血新羽化成虫的致死作用是由中肠上皮和唾液腺细胞等的改变引起,但其作用机制不清,尚待探讨。

致谢 郑州沙隆达伟新农药有限公司董世衍同志惠赠苯醚威,特此致谢!

参 考 文 献 (References)

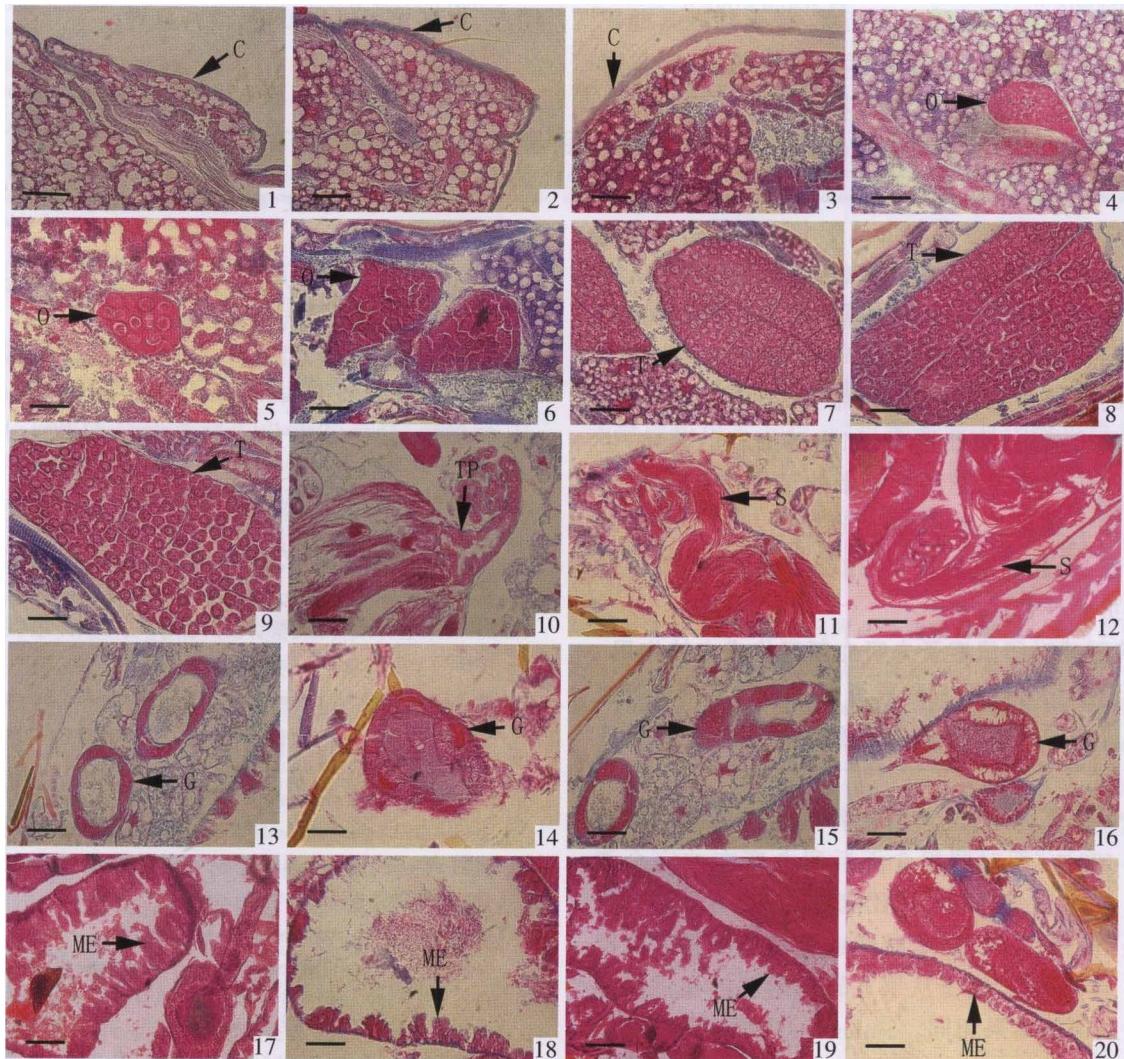
- Dean SR, Meola RW, 1997. Effect of juvenile hormone mimics on sperm transfer from the testes of the male cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.*, 34(4):485-488.
- Hao HL, Lin YL, Sun JC, Cao M, 2003. Pathoanatomy and biochemical studies on IGRs in relation to growth and reproduction in *Blattella germanica*. *Chinese Journal of Vector Biology and Control*, 14(1):41-43. [郝惠玲,林永丽,孙锦程,曹敏,2003. 昆虫生长调节剂影响德国小蠊发育繁殖的组织病理学变化及生化基础. 中国媒介生物学及控制杂志,14(1):41-43]
- Jiang ZK, Zheng ZM, Zhao XZ, 2001. Research and Application of Hygienic Insecticide and Equipment Science. Nanjing University Press, Nanjing. 8-10, 200-205. [姜志宽,郑智民,赵学忠,2001. 卫生杀虫药械学研究与应用. 南京:南京大学出版社. 8-10, 200-205]
- Osbrink WLA, Rust MK, Reiterson DA, 1986. Distribution and control of cat fleas in homes in Southern California (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Econ. Entomol.*, 79(1):135-140.
- Qi YM, 1984a. Fine structures of the reproductive system of three flea species: development of male gonads. *Acta Entomologica Sinica*, 27(1):57-63. [漆一鸣,1984a. 三种蚤生殖系统的细微结构:雄性生殖腺的发育. 昆虫学报,27(1):57-63]
- Qi YM, 1984b. Fine structures of the reproductive system of three flea species: development of female gonads. *Acta Entomologica Sinica*, 27(2):152-159. [漆一鸣,1984b. 三种蚤生殖系统的细微结构:雌性生殖腺的发育. 昆虫学报,27(2):152-159]
- Qi YM, 1985. Method of serial paraffin slices of flea tissues. *Journal of Guiyang Medical College*, 10(1):67-69. [漆一鸣,1985. 蚤组织学制片技术. 贵阳医学院学报,10(1):67-69]
- Qi YM, Wu HY, 2005. Flea. In: WU GL ed. Human Parasitology. 3rd ed. People's Medical Publishing House, Beijing. 936-956. [漆一鸣,吴厚永,2005. 蚤. 见:吴观陵主编. 人体寄生虫学(第三版). 北京:人民卫生出版社. 936-956]
- Meola R, Pullen S, Meola S, 1996. Toxicity and histopathology of the growth regulator pyriproxyfen to adults and eggs of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.*, 33(4):670-679.
- Rajapakse CNK, Meola R, Readio J, 2002. Comparative evaluation of juvenoids for control of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in Topsoil. *J. Med. Entomol.*, 39(6):889-894.

张迎春 漆一鸣 : 苯醚威作用于印鼠客蚤的组织学研究

图版 I

ZHANG Ying-Chun , QI Yi-Ming : Histological effects of fenoxycarb on the Oriental rat flea , *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera : Pulicidae)

Plate I



1 - 9 : 印鼠客蚤早 3 齡幼虫 *X. cheopis* , the early 3rd-instar larva ; 10 - 20 : 印鼠客蚤未吸血新羽化成虫 *X. cheopis* , the newly emerged flea. 1 : 丙酮 1 天 Acetone-treatment for 1 day ; 2 : 苯醚威 1 天 Fenoxycarb-treatment for 1 day ; 3 : 苟醚威 5 天 Fenoxycarb-treatment for 5 days ; 4 : 丙酮 3 天 (♀) Acetone-treatment for 3 days ; 5 : 苟醚威 3 天 (♀) Fenoxycarb-treatment for 3 days ; 6 : 苟醚威 7 天 (♀) Fenoxycarb-treatment for 7 days ; 7 : 丙酮 3 天 (♂) Acetone-treatment for 3 days ; 8 : 苟醚威 3 天 (♂) Fenoxycarb-treatment for 3 days ; 9 : 苟醚威 7 天 (♂) Fenoxycarb-treatment for 7 days ; 10 : 丙酮 1 天 (♂) Acetone-treatment for 1 day ; 11 : 苟醚威 1 天 (♂) Fenoxycarb-treatment for 1 day ; 12 : 丙酮 3 天 (♂) Acetone-treatment for 3 days ; 13 : 丙酮 1 天 Acetone-treatment for 1 day ; 14 : 苟醚威 1 天 Fenoxycarb-treatment for 1 day ; 15 : 丙酮 7 天 Acetone-treatment for 7 days ; 16 : 苟醚威 7 天 Fenoxycarb-treatment for 7 days ; 17 : 丙酮 3 天 Acetone-treatment for 3 days ; 18 : 苟醚威 3 天 Fenoxycarb-treatment for 3 days ; 19 : 丙酮 7 天 Acetone-treatment for 7 days ; 20 : 苟醚威 7 天 Fenoxycarb-treatment for 7 days. C : 表皮 Cuticula ; O : 卵巢芽 Ovarial rudiment ; T : 睾丸芽 Testicular rudiment ; TP : 睾丸塞 Testicular plug ; S : 精子束 Sperm bundles ; G : 唾液腺细胞 Salivary gland cell ; ME : 中肠上皮 Midgut epithelia. 标尺 Scale bar = 25 μ m.